

## イネ小カルス再分化系統に出現した変異形質

北川悦子

(秋田県生物資源総合開発利用センター)

Variations Detected in the Progenies Derived from Small Calluses of Rice

Etsuko KITAGAWA

(Akita Prefectural Center for Biological Resources Development)

### 1 はじめに

培養細胞から再分化した個体に高頻度で変異が誘発されることを利用し有用系統や品種の育成が行われているが、効率的な有用系統の育成には稔性低下や葉緑体変異といった不良変異形質の誘発を抑制する必要がある。そこで、変異誘発頻度が培養期間と関連することに着目し、培養期間の短縮による不良形質低減と不良形質を伴わない有用系統の育成を試みている。これまでに「小カルス誘導法」を開発し、培養期間の短縮を可能にした<sup>1)</sup>。本法では完熟種子胚から2週間で高再分化能を有する遊離小カルスを形成させることができ(図1)、直ちに再分化培養すると多数の再分化個体が得られるが、短い期間で誘発される培養変異についての知見はほとんどない。そのため小カルス再分化系統における変異形質とその出現頻度を明らかにし、育種利用について検討した。

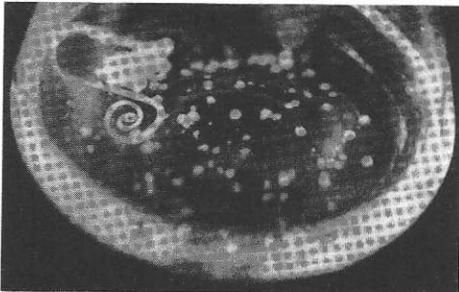


図1 小カルス誘導法による置床2週間後の遊離小カルス

### 2 試験方法

#### (1) 小カルスの誘導と再分化個体作出

30個の「あきたこまち」種子胚から27℃暗条件でカルス誘導した。2mlのN6C培地に2胚ずつ置床し、1週間振盪培養(45rpm)してからKSPC培地10mlと交換した。さらに1週間振盪培養(90rpm)を続け遊離小カルスを形成させた。再分化培養は27℃16時間明8時間暗条件で行い、直径425~850μmのカルスをKSP6M培地に置床し、4週間後に再分化個体を得た。

N6C培地とKSPC培地はそれぞれN6培地とKSP培

地<sup>2)</sup>の多量成分に共通成分(N6培地微量成分, B5ビタミン, 3%ショ糖, 2mg/l 2, 4-D)を添加しpH5.8に調整した培地である。また, KSP6M培地はKSPC培地からショ糖と2, 4-Dを除き6%マニトールを加え1.0%アガロースで固化した培地である。

再分化個体はガラス温室内で順化してからビニールハウスでポット栽培した。

#### (2) 再分化当代の調査

葉緑体変異は順化時のアルビノを指標とし調査した。稔実率は最長稈の種で調べた。

#### (3) 自殖一代目の変異形質調査

1個体からの1種を1系統とし66系統を供試した。慣行法で育苗し中苗1本植えて各系統30株定植し、21株について7形質の調査を行った。葉緑体は育苗期にアルビノと苗の葉色を指標に調査した。出穂期は1株の40~50%が出穂した日とし、稈長、穂長、一穂粒数、稔性は最長稈について調査した。穂数は遅れ穂を除き計数した。変異系統は分散分析で原品種「あきたこまち」と1%の危険率で有意差のあった系統とした。

#### (4) 有用系統の選抜

「たかねみのり」を基準品種として早生系統を選抜した。

### 3 試験結果及び考察

#### (1) 再分化当代の形質

種子胚30個に由来するカルスから再分化した103個体のうちアルビノは1個体であり、これを指標とした葉緑体変異出現率は1.0%であった。アルビノを除く102個体の稔性調査(表1)により、稔実率81%以上の高稔性個体が高い頻度(94%)で得られることが明らかになった。

表1 再分化当代での稔実率\*の頻度分布

稔実率(%)	個体数
0~20	0
21~40	1
41~60	1
61~80	4
81~100	96

注. \*: 稔実率=稔実粒数/総粒数×100

(2) 自殖一代目の変異形質

7 形質について調査したところ (表 2), 6 形質で変異系統が検出された。出穂期と稈長での変異出現率は20~25%と比較的高く、稔性では15%, 穂長, 穂数及び一穂粒数では5%であり葉緑体では検出されなかった。葉緑体変異をヘテロにもつ系統がなかったことから小カルス再分化系統での葉緑体変異出現率は1%程度と低頻度であると考えられる。一方, 再分化当代では高稔性であった個体が次世代で不稔や低稔性(稔実率60%以下)分離系統となったことは, 少なくとも2種類の稔性変異がヘテロに誘発されていたことを示している。この他に稔性低下(原品種と1%の危険率で有意差)系統も検出されており, 小カルス再分化系統には稔性を低下させる複数の変異が誘発されていると推定される。各形質の変異幅は出穂期では早晚両方向, 稈長は長短両方向, 穂長も長短両方向, 穂数は増加, 一穂粒数は減少, 稔性は不稔や低稔性分離系統や低稔性系統が検出され, 変異出現率の高い形質で変異幅が大きくなる傾向が認められた。

表 2 自殖一代目で検出された変異形質

変異形質	変異系統数	出現率*(%)
葉緑体変異	0	0
出穂期	2	3
早生	2	3
晩生	12	18
稈長	14	21
長稈	2	3
短稈	2	3
穂長	1	2
長穂	4	6
短穂	0	0
穂数	0	0
増	4	6
減	1	2
一穂粒数	5	8
増	4	6
減	1	2
稔性	5	8
不稔分離	4	6
低稔性分離	1	2
低下	4	6

注. \*: 出現率=変異系統数/供試系統数×100

変異系統の実用性を検討するため, 同一系統への変異形質の重複について調べた(表3)。供試系統の60%にあたる40系統が変異系統であったことから, 小カルス再分化系統は変異系統の選抜, 育成に利用できると考えられる。また, 全変異系統の75%にあたる30系統では変異形質数が1であったことから, 原品種と1形質のみ異なる変異系統育成が可能と考えられる。

変異形質が重複した系統は10系統であり, 2形質の重複は9系統, 3形質の重複が1系統で, 4形質以上の重複はなかった。重複した形質は変異出現率の高かった稈長, 出穂期, 稔性間での場合が多く, 重複する形質間に特定の傾

向は認められなかった。また, 稔性や葉緑体変異を伴わない変異系統数は30系統(全変異系統の75%)であったことから, 小カルス再分化系統から不良形質を伴わない有用系統育成ができると考えられる。

表 3 自殖一代目で検出された重複変異形質

変異形質数	系統数	出現率*(%)	変異形質の種類(系統数)
0	26	39	
1	30	45	稈長(11), 出穂期(8), 稔性(5), 穂数(4), 穂長(2)
2	9	14	出穂期と一穂粒数(2), 稈長と稔性(2), 出穂期と稔性(2), 出穂期と稈長(1), 稈長と一穂粒数(1), 穂長と稔性(1)
3	1	2	出穂期と稈長と一穂粒数(1)

注. \*: 出現率=変異系統数/供試系統数×100

(3) 有用変異系統の選抜

原品種「あきたこまち」と1形質のみ異なる系統を育成するため, 早生品種「たかねみのり」並の出穂期であった2系統を選抜した。2系統は出穂期以外の形質では「あきたこまち」と統計的な有意差はなかった(表4)。

表 4 選抜系統の特性

系統, 品種名	97043	97044	あきたこまち	たかねみのり
出穂期(月/日)	8/ 6	8/ 6	8/ 8	8/ 6
稈長(cm)	77.1	74.1	75.4	-
穂長(cm)	18.3	18.2	18.4	-
穂数(本/株)	11.7	11.9	11.0	-
一穂粒数	120.3	118.7	128.3	-
稔実率*(%)	95.7	95.5	95.6	-

注. \*: 稔実率=稔実粒数/総粒数×100

4 ま と め

短期間の培養で効率的に再分化個体を作出できる「小カルス誘導法」で小カルス再分化系統を作出した。自殖一代目までの特性調査から, 稔性や葉緑体変異を伴わない変異系統が多数得られることが明らかになった。さらに, 供試系統の約半数は変異形質数1の系統であり, 原品種と1形質のみ異なる系統の育成が可能であることが示唆された。

引用文献

- 1) 北川悦子. 1998. 液体培地で誘導したイネの初期小カルスからの植物体再生. 育雑 48 (別1): 275.
- 2) 津川秀仁, 大槻義昭. 1993. イネにおける細胞培養系の汎用化. 1. コシヒカリの懸濁培養及び再分化. 育雑 43 (別2): 121.